

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.  
10. Jg. 1972, S. 512—515

## Wirkung von Heparin in vitro auf die Reninaktivität im Plasma<sup>1)</sup>

Von H. LINDSTAEDT<sup>2)</sup>, HANNELORE SCHMIDT, H. KAULHAUSEN<sup>3)</sup> und H. BREUER

*Aus dem Institut für Klinische Biochemie und Klinische Chemie der Universität Bonn*

(Eingegangen am 11. April/26. Juli 1972)

Es wurde die Wirkung von Heparin in vitro auf die Reninaktivität im Plasma und im Serum des Menschen unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Bereits geringe Mengen von Heparin hemmten im Plasma die Freisetzung von Angiotensin; die Hemmung war von der Heparinkonzentration abhängig. Wurde Heparin dem Serum vor der Dialyse zugesetzt, so war die Hemmung geringer als bei Zusatz nach der Dialyse. Diese Befunde sprechen gegen eine ausschließliche Konkurrenz zwischen Reninsubstrat und Heparin. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse ist die Bestimmung der Reninaktivität im Heparin-Plasma abzulehnen.

### *In vitro activity of heparin on the renin activity in plasma*

The effect of heparin in vitro on the renin activity in human plasma and serum was examined under various conditions. Even small amounts of heparin in the plasma inhibited the liberation of angiotensin, and the inhibition was dependent on the heparin concentration. If heparin was added to the serum before the dialysis, the inhibition was less than when the heparin was added after dialysis. This finding weighs against an exclusive competition between the renin substrate and heparin. On the basis of the results given here, the determination of renin activity in heparinized plasma should be avoided.

Während der letzten Jahre haben mehrere Autoren über die Wirkung von Heparin auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System berichtet. So fanden SCHLATTMANN et al. (1) nach Gabe von Heparin und Heparinoiden eine verminderte Ausscheidung von Aldosteron im Urin; als Ursache vermuteten sie eine Blockierung des Renin-Angiotensin-Systems. Diese Annahme wird durch die Untersuchungen von JAKES et al. (2) unterstützt, aus denen hervorgeht, daß sich Heparin als Säure mit Angiotensin II zu einem schwer dialysierbaren Komplex verbindet. CONN et al. (3) sind der Ansicht, daß die erniedrigte Aldosteronausscheidung nach Verabreichung von Heparin auf eine Hemmung der Biosynthese von Aldosteron in der Nebennierenrinde zurückzuführen ist; auch MAJOR (4) kommt anhand neuerer Untersuchungen zu dem gleichen Schluß.

SEALEY et al. (5) beobachteten in vitro eine Hemmung der Freisetzung von Angiotensin durch Heparin (5—1900 Einheiten/ml Blut), die umgekehrt proportional zur Konzentration des Reninsubstrats im Plasma war. Die Autoren erklären ihren Befund mit einer reversiblen (kompetitiven) Hemmung zwischen Reninsubstrat und Heparin. Ähnlich wiesen auch KANEKO et al. (6) eine verminderte Angiotensinfreisetzung in vitro bei Heparinkonzentrationen zwischen 100 und 400 Einheiten/ml Plasma nach; bei Konzentrationen unter 40 Einheiten/ml war die Hemmung jedoch nicht signifikant. Möglicherweise besteht ein Zusammenhang mit der klinischen Beobachtung, daß nach Verabreichung von Heparin über einen längeren Zeitraum der Blutdruck absinkt (7).

Bei vielen Methoden zur Bestimmung der Reninaktivität (vgl. l. c. (8—11)) wird heparinisiertes Plasma verwendet. Bereits in früheren Untersuchungen hatten sich Hinweise dafür ergeben, daß die Menge der einge-

setzten Heparin-Präparation (Liquemin) eine kritische Größe bei der Bestimmung von Renin darstellt (12). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit die Wirkung von Heparin auf die Reninaktivität des menschlichen Plasmas in vitro eingehend untersucht. Es zeigte sich, daß Heparin in der Tat einen deutlichen Einfluß auf die Aktivität von Renin ausübt.

### Methodik

#### *Prinzip der Methode zur Bestimmung der Reninaktivität im Plasma und im Serum*

Die Reninaktivität wurde nach der bereits früher beschriebenen Methode (12) bestimmt.

Als Reninsubstrat diente vorbehandeltes Citrat-Plasma nephrektomierter Katzen. Durch Dialysen gegen EDTA-haltige Puffer wurden die Angiotensinasen bei niedrigen pH-Werten (3,3 bzw. 3,9) in den zu untersuchenden Plasma- und Serumproben sowie in der Reninsubstrat-Lösung inaktiviert. Die Inkubation von 0,5 ml Plasma oder 0,5 ml Serum mit 0,2 ml Reninsubstrat-Lösung wurde bei pH 7,5 durchgeführt. Das während der 20stdg. Inkubation entstandene Angiotensin II wurde im Rattenblutdruckversuch in Form eines „Bracket Assay“ gemessen. Wegen des geringeren Arbeitsaufwandes wurde das zur Fällung verwendete Äthanol nicht am Rotationsverdampfer, sondern unter Stickstoff (nachgereinigt) bei 37° im Wasserbad eingedampft.

#### *Enzym-Einheit*

Eine Renin-Einheit (R. E.) ist die Reninaktivität in 0,5 ml Plasma bzw. Serum, die unter Zusatz von 0,2 ml Reninsubstrat-Lösung (Katzenplasma) während einer 20stdg. Inkubation bei 37° eine vasopressorische Aktivität freisetzt, welche der von 1 ng Asparaginyl-Angiotensin II (Hypertensin CIBA) entspricht.

<sup>1)</sup> Enzym: Renin (EC 3.4.4.15).

<sup>2)</sup> Teil der Dissertation H. LINDSTAEDT, Medizinische Fakultät der Universität Bonn, 1972.

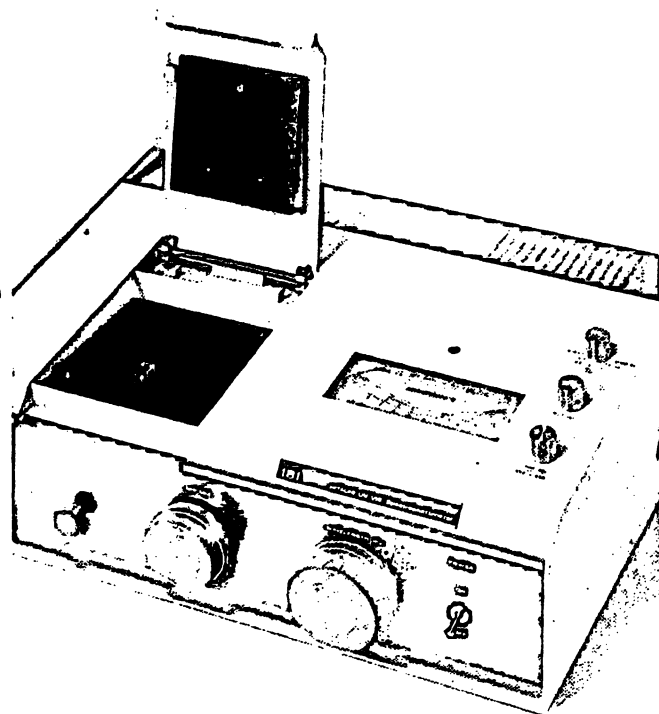
<sup>3)</sup> Auszugsweise vorgetragen von H. KAULHAUSEN auf dem Congressus Biochimiae Clinicae in Prag, 14.—18. September 1971; vgl. Abstracta, S. 190.

**Günther Kraft  
Josef Fischer**

## Indikation von Titrationsen

Oktav. XII, 305 Seiten. Mit 124 Abbildungen.  
1972. Plastik flexibel DM 58, — ISBN 311 0016257  
(Arbeitsmethoden der modernen Naturwissenschaft  
herausgegeben von Prof. Dr. Kurt Fischbeck)

Titrationenverfahren stehen aus den verschiedensten  
Gründen unter den chemischen Analysenverfahren  
im Vordergrund. Eine Titration kann aber nur so  
genau ausgeführt werden, wie es die Indikation  
ihres Endpunktes ist.  
Dieser entscheidenden Frage ist das Buch gewidmet,  
das als erstes deutschsprachiges seiner Art den  
Gesamtkomplex der Indikation von Titrationsen  
behandelt.



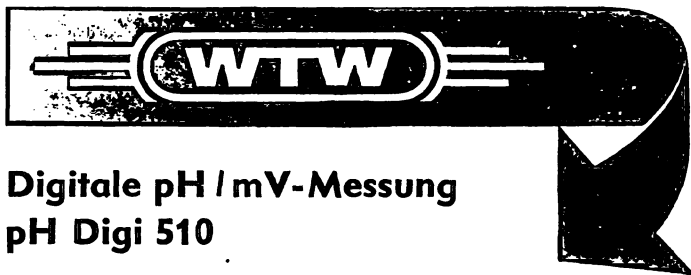
## Hitachi- Spektralphotometer 181

Leistungsfähiges Einstrahl-Spektral-  
photometer mit hochwertigem  
Gittermonochromator 1440 Striche  
pro mm. Spektralbereich: 200 nm bis  
900 nm, Wellenlängengenauigkeit:  
> ± 0,5 nm. Bandbreite: 2 nm.  
Lineare Anzeige von Transmission  
und Extinktion in 4 Bereichen:  
0—1, 0.5—1.5, 1—2, 0—0.1 E. Mit  
Wolfram- und Deuteriumlampe und  
eingebautem 4-Küvettenwechsler.

Alleinvertretung für Deutschland:

**Colora Messtechnik GmbH**  
**7073 Lorch/Württ. 1, Postfach 5**  
**T (07172) 60 41, FS 07-248 886**

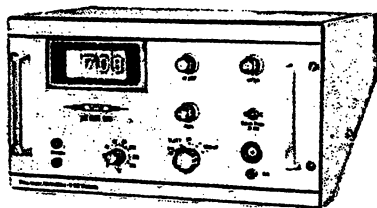
Technische Büros (Verkauf und Kundendienst):  
1000 Berlin 30, Ansbacher Straße 17—19, T 24 40 90  
2000 Hamburg 19, Osterstraße 63, T 4 91 10 34, FS 02-12 947  
3000 Hannover, An der Tiefenriede 45, T 88 45 00  
4000 Düsseldorf 1, Kronprinzenstr. 62, T 32 01 64, FS 08-587 253  
6000 Frankfurt a.M., Röderbergweg 4-6, T 44 60 31, FS 04-11 216  
8000 München 19, Dachauer Straße 175, T 19 38 58



## Digitale pH / mV-Messung pH Digi 510

- o Bereich pH 0,00—14,00/ ±1999 mV
- o Genauigkeit ±0,01 pH/ ±1 mV
- o irrtumsfreie Ablesung
- o angemessener Preis

Temp. Kompensation  
manuell oder automa-  
tisch, Schreiberan-  
gang,  
Messung aller Potentiale,  
auch ionensensitiv.



Fordern Sie Prospekte  
über unser Gesamtprogramm an!  
Bei Ihrem Fachhändler  
oder direkt bei uns!

**Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH**  
**Dr. hab. K. Slevogt · 812 Weilheim · Tel. (0881) 26 38/27 84**

### Büros:

43 Essen K. Akemann, Lönsberg 22, Ruf (0 21 41) 51 00 19  
7401 Entringen/Tübingen W. Bohn, Uhlstraße 7, Ruf (07 12 02) 5 66  
58 Hagen H. Duckstein, Hestertstraße 64, Ruf (0 23 31) 4 58 57  
635 Bad Nauheim H. Ballauff, Frankfurter Straße 39, Ruf (0 60 32) 48 60

**colora**

## Clinical Biochemistry

### Principles and Methods

Edited by H.-CH. CURTIUS  
Medizinisch-Chemische Abteilung der  
Universitäts-Kinderklinik, Zürich

and  
MARC ROTH  
Laboratoire Central  
Hopital Cantonal universitaire, Geneve

61 authors from 11 different countries  
have contributed to this book  
which presents many of the techniques  
of interest to clinical chemists and  
clinical biochemists.

Current procedures are critically  
discussed, and special emphasis is given  
to new methods likely to become  
important in the coming years. A number  
of techniques are given in detail,  
and the others are presented with  
the appropriate references.

The book contains numerous tables  
and illustration, and an extensive index  
permits ready access to specific items.

Approx. 900 pages with many graphs

Size: 17 × 24 cm

Approx. DM 175,—/\$ 55.50

Prospective date of publication  
summer 1973

### Contents

#### General Methodology

**I. Preparation of Samples**  
(M. Roth and H.-Ch. Curtius)

**II. Methods of Separation**  
Chromatography: Thin-Layer (H. K.  
Mangold) — Gel (H. Determann) —  
Ion Exchange (H. Determann) —  
Gas-Liquid Chromatography and its  
Combination with other Analytical  
Techniques (H.-Ch. Curtius and  
J. A. Völlmin).

Electrophoresis: Membrane, incl. Im-  
munoelectrophoresis, Gel (Agar, Starch,  
Polyacrylamide), Thin-Layer, High  
Voltage and Electro Focussing  
(J. Jákó and W. Hitzig).  
Ultracentrifugation (H. Sund and  
F. Huch). — Dialysis and Ultrafiltration  
(T. P. King). — Extraction by Adsorption  
(A. Niederwieser).

**III. Methods of Analysis**  
Photometry: Absorption and Fluorimetry  
(M. Roth) — Flame Photometry (J. Frei)  
Atomic Absorption (H. Brandenberger). —  
Isotope Techniques: Principles and  
Applications (H. J. Degenhart) —  
Activation Analysis (D. Comar) —  
Radioimmunoassays (J.-P. Felber) —  
Protein-Binding Methods (A. Vermeulen).  
Mass Spectrometry (J. A. Völlmin). —  
Electrochemical Methods (J. Bierens  
de Haan) — Ion-Selective Electrodes  
(J. T. Clerc, E. Pretsch). —  
Calorimetric Methods (K. Levin). —  
Enzymatic Analysis (M. Roth and  
J.-P. Felber). — Automation and Data  
Processing (J. Bierens de Haan)  
including GeMSAEC (N. G. Anderson). —  
Ultramicro Techniques (M. Roth). —  
Statistics (Th. Marthaler). — Quality Control  
and Normal Values (M. J. R. Healy  
and F. L. Mitchell).

#### Detailed Procedures According to Groups of Substances

##### IV. Hormones

Peptide Hormones (J.-P. Felber) —  
Function Tests (R. Illig). — Steroid Hor-  
mones: Androgens, Progesterone and  
Metabolites, Corticosteroids (J. A. Völlmin,  
H.-Ch. Curtius, H. J. Degenhart and  
A. Vermeulen) — Estrogens (H. Breuer  
and L. Nocke-Finck) — Aldosterone  
(A. Aakvaag) — Function Tests (M. Zach-  
mann). — Biologically Active Amines  
(C. Bohuon). — Thyroid Hormones:  
Protein-bound Iodine (A. Uetwiler) —  
Application of Radioactive Iodine in  
Diagnosis and Treatment of Thyroid  
Diseases (W. D. Reitsma and M. G. Wold-  
ring).

**V. Bile Acids** (D. Mayer).

##### VI. Carbohydrates and Related Compounds

Gas-Liquid Chromatography of Carbo-  
hydrates (W. W. Wells). — Glucose,  
Galactose, Fructose, Inulin and Ketone  
Bodies in Blood and Urine (E. Hult-  
man). — Glycosaminoglycans  
(H. Greiling).

##### VII. Vitamins

Vitamin A (G. B. Brubacher and  
J. P. Vuilleumier) — Vitamin B<sub>12</sub>  
(U. G. Woldring and A. K. van Zanten) —  
Vitamin C (G. B. Brubacher and  
J. P. Vuilleumier) — Vitamin D  
(E. Kodicek and D. E. M. Lawson).

##### VIII. Lipids (H. K. Mangold)

**IX. Amino Acids** (Th. Gerritsen and  
A. Niederwieser) — Fluorimetric Assay  
of Amino Acids (M. Roth).

**X. Other Nitrogenous Compounds**  
(G. Ceriotti).

##### XI. Enzymes

in Plasma (M. Roth, C. Bohuon, J. King  
and G. Ceriotti) — in Erythrocytes  
(W. Schröter) — in Leucocytes (J. Frei) —  
Glycogen and Enzymes of Glycogen  
Metabolism (F. Huijing) — Enzymes  
of Fructose and Galactose Metabolism,  
Galactose-1-Phosphate (R. Gitzelmann) —  
in Pancreatic and Duodenal Juice  
and in Feces (B. Borgström) —  
in Intestinal Mucosa (S. Auricchio and  
A. Rubino) — Defects in Lipidoses and  
and their Prenatal Detection (R. O. Brady)  
— UDP-Glucuronyl-Transferase  
(J. Frei) — Survey of Enzyme Assay  
Related to Inborn Errors of Metabolism  
(R. Gitzelmann, in cooperation with  
Th. Gerritsen, H. J. Degenhart, M. Roth  
and others).

**XII. Hemoglobins, Porphyrins and  
Related Compounds: Heme Proteins**  
(K. Winterhalter) — Porphyrins and  
Related Compounds (M. Doss) —  
Bilirubin and other Bile Pigments  
(M. Roth).

##### XIII. Organic Acids in Urine

Aromatic Acids (H.-Ch. Curtius,  
J. A. Völlmin and H. J. Degenhart) —  
Acids of the Tricarboxylic Acid Cycle  
(L. Késner) —  $\alpha$ -Keto Carboxylic Acids  
(H.-Ch. Curtius) — Other Organic Acids  
(H. J. Degenhart).

**XIV. Toxic Substances and Drugs**  
(H. Brandenberger)

**XV. Proteins** (W. Hitzig and J. Jákó).

**XVI. Tolerance Tests and Clearance  
Investigations** (E. Lëumann).

**XVII. Inorganic Substances**  
Cations (G. Ceriotti) — Anions  
(G. Ceriotti) — Other Metals including  
Heavy Metals (H. Brandenberger).

**XVIII. Acid-Base Balance and Gas  
Analysis of Respiratory Air and Blood**  
(R. Rispens and W. G. Zijlstra) —  
Mass Spectrometry of Blood and  
Respiration Gases (A. M. Lawson)

**Versuchspersonen**

Die Untersuchungen wurden an drei Frauen (Alter 18—26 Jahre) und sieben Männern (Alter 24—27 Jahre) vorgenommen. Alle Versuchspersonen waren frei von erkennbaren Krankheiten. Die Frauen erhielten weder orale Kontrazeptiva noch andere Hormonpräparate; Schwangerschaften konnten ausgeschlossen werden.

**Heparin-Versuche**

Um den Einfluß von Heparin (Liquemin 5000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/Baden) auf die Angiotensinbildung in vitro zu untersuchen, wurde die Reninaktivität sowohl im Plasma als auch im Serum bei Heparinkonzentrationen zwischen 28 und 330 USP-E./ml bestimmt (1 µl Liquemin 5000 entspricht 5 USP-E. Heparin). Plasma und Serum stammten bei allen Versuchspersonen aus der gleichen Blutprobe; in allen Versuchen wurde der Hämatokrit-Wert bestimmt. Da Heparin nach der Zentrifugation im Plasmaanteil erscheint, konnten mit Hilfe der Hämatokrit-Werte die Heparinkonzentrationen bestimmt werden. Das Heparin wurde mit einer Agla-Spritze (Micrometer Syringe Outfit, Burroughs Wellcome, London) abgemessen; durch vorsichtiges Schütteln der Blut- bzw. Serumproben wurde eine vollständige Durchmischung erreicht. Den Serumproben wurde Heparin entweder vor oder nach der Dialyse zugesetzt.

**Ergebnisse****Einfluß von Heparin auf die Angiotensinbildung in vitro**

Die Reninaktivität war in den heparinfreien Serumproben am höchsten (Tab. 1). Eine deutlich niedrigere Reninaktivität, d. h. eine geringere Bildung von Angiotensin wurde im Plasma festgestellt, wenn sofort nach der Blutentnahme Heparin zugesetzt worden war. Die Hemmung der Angiotensinfreisetzung war hochsignifikant ( $p < 0,001$ ) und konzentrationsabhängig: Bei Zusatz von nur 30 USP-E. Heparin/ml Plasma betrug die Hemmung im Mittel 40—45%; im Bereich von 60—90 USP-E. Heparin/ml war sie geringer und nahm dann bei Konzentrationen zwischen 90 und 300 USP-E. Heparin/ml Plasma wieder zu. Der Einfluß von Heparin auf die Plasmareninaktivität bei 10 Normalpersonen ist in Abbildung 1 graphisch dargestellt; dabei wurde die Hemmung, ausgedrückt in % der Reninaktivität im Serum, gegen steigende Heparin-

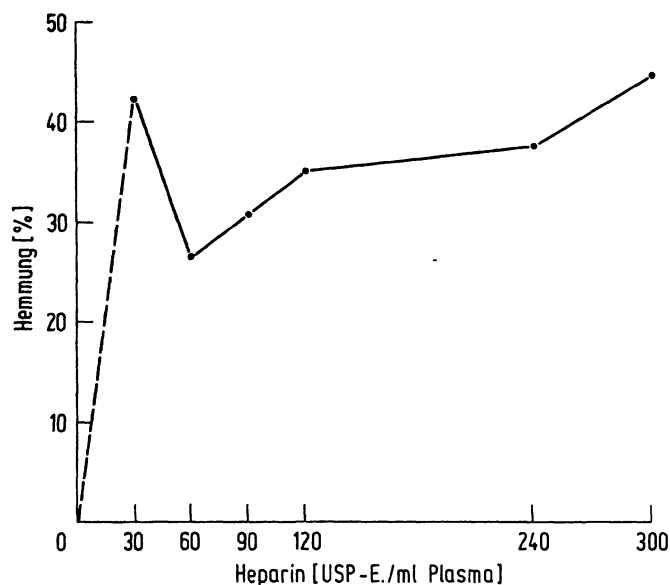


Abb. 1

Hemmung der Reninaktivität im Plasma in Prozent durch steigende Konzentrationen von Heparin; die Werte sind auf die Reninaktivität im heparinfreien Serum bezogen (keine Hemmung). Die Bestimmung der Reninaktivität erfolgte durch Messung des freigesetzten Angiotensins; Einzelheiten vgl. Methodik. Die Punkte der Kurve sind Mittelwerte aus den Bestimmungen bei 10 Versuchspersonen

konzentrationen (30—300 USP-E./ml Plasma) aufgetragen.

Auch wenn vor der Dialyse Heparin den Serumproben zugefügt wurde (Tab. 1), ließ sich eine signifikante Hemmung der Angiotensinfreisetzung nachweisen; sie betrug im Mittel 27% bei Heparinkonzentrationen von 60 und 90 USP-E. Heparin/ml Serum. Erfolgte der Zusatz von Heparin (30—120 USP-E./ml) zu den Serumproben nach der Dialyse (Tab. 1), so war die Reninaktivität gegenüber derjenigen im heparinfreien Serum nur geringfügig verändert; allerdings schienen auch in diesem Fall die absoluten Werte von der jeweiligen Heparinkonzentration in der oben beschriebenen Weise abhängig zu sein.

Tab. 1

Wirkung verschiedener Heparinkonzentrationen auf die Reninaktivität in vitro in Seren und Plasmen männlicher und weiblicher Versuchspersonen. Die Bestimmung der Reninaktivität erfolgte durch Messung der Angiotensinfreisetzung; Einzelheiten vgl. Methodik. Hkt = Hämatokrit

Ver- suchs- person	Ge- schl.	Alter	Hkt	Zusatz von Heparin $\left[ \mu\text{l} \cdot \left( \frac{100 - \text{Hkt}}{100} \cdot \text{ml Plasma} \right)^{-1} \right]$													
				0			Serum nach Dialyse				Plasma						
				Serum vor Dialyse			Renin-Aktivität [R. E.]										
P. B.	♂	25	45	22	18	—	—	17,5	23,5	21	8	20	—	16	13	12	
A. L.	♀	26	42	33	28	—	31	32	38	36	24	26,5	26,5	25	23	22	
G. S.	♀	18	45	20	9	10	17	17	19	17	12	12	10	8	7	7	
E. G.	♂	26	46	34	24	25	28	31	30	29	12	22	21,5	21	18	14	
E. G.	♀	18	44	24	18	19	25	28,5	25,5	23,5	12	17	20	18	17	14	
W. G.	♂	26	47	36	25	26	36	42	43	40	19	21	26	23	21	18	
W. N.	♂	24	43	18	12	13	13	14	16	14	11	12	12	10	9	8	
K. K.	♂	26	48	37	22	23	32	37	38	35	26	29	28	27	25	24	
D. K.	♂	27	50	31	25	27	28	30	31	29	25	29	24	23	22	21	
H. S.	♂	26	46	12	10	10	11	12	12	10	6	8,5	7	7	5,5	5	
Mittelwerte			$\bar{x}$	26,7	19,1	20,1	24,6	26,1	27,6	25,5	15,5	19,7	19,4	17,8	16,1	14,5	
Standardabweichung			s	8,6	6,8	7,4	8,8	10,3	10,2	10,0	7,4	7,3	7,8	7,3	7,0	6,6	
Signifikanz			$p_a$	a	<0,001	<0,01	<0,02	<0,6	<0,4	<0,2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
			$p_b$		b			<0,005				<0,6					
			$p_c$			c			<0,005				<0,5				

Tab. 2

Wiederfindung von Angiotensin II (Hypertensin CIBA) nach Inkubation mit Serumproben (Versuch 1 und 2) sowie mit Reninsubstrat-Lösung (Katzenplasma; Versuch 3 und 4). Es wurden jeweils 200 ng Angiotensin II in 0,8 ml 0,9proz. NaCl-Lösung aufgenommen und mit 0,2 ml Serum bzw. Reninsubstrat-Lösung 20 h lang inkubiert. Die Angiotensinasen waren durch Dialyse der Serum- und Katzenplasma-Proben gegen EDTA-haltige Puffer bei niedrigem pH-Wert (3,3 bzw. 3,9) inaktiviert worden

Versuch	Angiotensin II inkubiert ng	Serumprobe ml	Reninsubstrat (Katzenplasma) ml	0,9proz. NaCl ml	Puffer pH 7,5 ml	Angiotensin II nachgewiesen ng	Angiotensin II wiedergefunden %
1a	200	0,2	—	—	—	170	85
b	200	—	—	0,2	—	170	85
2a	200	0,2	—	—	—	170	85
b	200	—	—	0,2	—	170	85
3a	200	—	0,2	—	—	170	85
b	200	—	—	0,2	—	170	85
4a	200	—	0,2	—	—	170	85
b	200	—	—	—	0,2	170	85

### Inaktivierung der Angiotensinasen

Die Inaktivierung der im Serum des Menschen sowie in der Reninsubstrat-Lösung (Katzenplasma) vorkommenden Angiotensinasen wurde durch Inkubation von Serum bzw. Reninsubstrat mit jeweils 200 ng Asparaginy-Angiotensin II (Hypertensin CIBA) überprüft. Es zeigte sich, daß sowohl in den Serumproben als auch in der Reninsubstrat-Lösung die Angiotensinasen vollständig gehemmt wurden (Tab. 2).

### Sonstige vasopressorische Substanzen

Während in der Reninsubstrat-Lösung nach Inkubation mit 0,9proz. NaCl-Lösung oder mit Phosphat-Puffer (pH 7,5) keine vasopressorische Aktivität nachgewiesen werden konnte, ergaben die Serumproben deutlich meßbare Leerwerte. Die Versuchsergebnisse wurden dadurch jedoch nicht beeinflusst; auf diesen Punkt ist bereits früher eingegangen worden (13).

### Präzision der Methode zur Bestimmung der Reninaktivität im Serum

Um die Präzision der Methode beurteilen zu können, wurde eine 10fach-Bestimmung der Reninaktivität im Serum einer männlichen Normalperson vorgenommen. Bei einem Mittelwert von 30,0 R. E. betrug die Standardabweichung (s)  $\pm 1,0$ ; der Variationskoeffizient (VK) war 4%.

### Normalwerte der Reninaktivität im Serum

Bei neun Normalpersonen (Alter 18–27 Jahre) lag die Reninaktivität im Serum bei Orthostase zwischen 18,0 und 37,0 R. E. Der Mittelwert betrug 28,5 R. E., die Standardabweichung (s)  $\pm 7,5$ .

### Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung konnte ein Einfluß von Heparin (Liquemin) auf die Freisetzung von Angiotensin in vitro nachgewiesen werden. Es zeigte sich, daß die Heparinwirkung konzentrationsabhängig war; das Ausmaß der Hemmung hing davon ab, ob Heparin bereits bei der Blutentnahme, zu Beginn der Dialyse oder erst nach der Dialyse zugesetzt wurde. Mit der von SEALEY et al. (5) vermuteten Konkurrenz

zwischen Reninsubstrat und Heparin kann nur ein Teil unserer Ergebnisse erklärt werden.

1. Wenn der Heparinzusatz zum Vollblut bzw. zum Serum vor Beginn der Dialyse erfolgte, war die Angiotensinfreisetzung während der Inkubation signifikant vermindert; möglicherweise ist dies darauf zurückzuführen, daß Heparin während der Dialyse die aktiven Stellen des Enzyms besetzt. Das endogene, im Serum der Versuchspersonen enthaltene Reninsubstrat kann praktisch vernachlässigt werden, da es während der Dialyse bei pH 3,3 fast vollständig gefällt wird.

2. Im Bereich zwischen 90 und 300 USP-E. Heparin/ml Plasma nimmt die Hemmung mit steigenden Heparinkonzentrationen zu. Im Gegensatz zu den Vermutungen von SEALEY et al. (5) steht die Beobachtung, daß bei der niedrigen Heparinkonzentration von 30 USP-E./ml Plasma die Hemmung der Angiotensinbildung stärker war als im Bereich zwischen 60 und 240 USP-E./ml (vgl. Abb. 1).

Wie schon erwähnt, war das Ausmaß der Hemmung davon abhängig, ob Heparin vor der Dialyse oder nach der Dialyse in die Serumproben gegeben wurde. Befand sich Heparin bereits während der Dialyse im Plasma bzw. Serum, so ergab sich eine deutlich geringere Freisetzung von Angiotensin. Daraus kann gefolgert werden, daß die Hemmung der Reninsubstrat-Renin-Reaktion durch Heparin in vitro hauptsächlich während des Dialysevorganges, d. h. bei niedriger Temperatur (4°C) einsetzt. Die hier vorgelegten Ergebnisse sprechen gegen die Annahme, daß es sich bei der Wirkung von Heparin auf die Freisetzung von Angiotensin ausschließlich um eine kompetitive Hemmung handelt. Allerdings muß berücksichtigt werden, daß in dem von SEALEY et al. (5) angewandten Verfahren endogenes Reninsubstrat umgesetzt wird, während in den eigenen Untersuchungen exogenes Reninsubstrat Verwendung findet. Im übrigen läßt sich eine Aussage über den Mechanismus der Hemmung der Reninaktivität durch Heparin zur Zeit nicht machen. So kann nicht ausgeschlossen werden, daß die hier eingesetzte Heparin-Präparation (Liquemin) Begleitstoffe wie z. B. Histamin enthält, welche in die Reaktionen eingreifen, die während der Aufarbeitung und Inkubation der

Plasmaproben ablaufen. Da zwischen heparinhaltigen Serumproben und Plasmen bei gleichen Heparin-Konzentrationen keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Angiotensinfreisetzung auftraten (vgl. Tab. 1), ist anzunehmen, daß der Gerinnungsvorgang an sich keinen Einfluß auf die Reninaktivität hat.

Aufgrund der oben beschriebenen Beobachtungen ist die Bestimmung der Reninaktivität im Heparin-Plasma abzulehnen, da bereits relativ geringe Konzentrationen

von Heparin zu falsch erniedrigten Werten führen; die Unterscheidung zwischen normalen und erniedrigten Reninaktivitäten ist andererseits bei der Diagnostik der „low-renin essential hypertension“ (14) von großer Bedeutung. Die genannten Schwierigkeiten lassen sich dadurch umgehen, daß man sowohl bei den biologischen als auch bei den radioimmunologischen Verfahren zur Bestimmung der Reninaktivität entweder Serum oder EDTA-Plasma verwendet.

### Literatur

1. SCHLATMANN, R. J. A. F. M., JANSEN, A. P., PRENEN, H., VAN DER KORST, J. K. & MAJOOR, C. L. H. (1964), *J. clin. Endocrinol. Metab.* 24, 35—47. — 2. JAKES, R., KÜTTNER, K., BEIN, H. J. & MEIER, R. (1960), *Experientia* 16, 147. — 3. CONN, J. W., ROVNER, D. R., COHEN, E. L. & ANDERSON, J. E. (1966), *J. clin. Endocrinol. Metab.* 26, 527—532. — 4. MAJOOR, C. L. H. (1969), *Ned. T. Geneesk.* 113, 767—771. — 5. SEALEY, J. E., GERTEN, J. N., LEDINGHAM, J. G. G. & LARAGH, J. H. (1967), *J. clin. Endocrinol. Metab.* 27, 699—705. — 6. KANEKO, Y., IKEDA, T., TAKEDA, T. & UEDA, H. (1967), *J. clin. Invest.* 46, 705—716. — 7. KELLER, R. (1955), *Medizinische I*, 492—495. — 8. BROWN, J. J., DAVIES, D. L., LEVER, A. F., ROBERTSON, J. I. S. & TREE, M. (1964), *Biochem. J.* 93, 594—600. — 9. SKINNER, S. L. (1967), *Circ. Res.* 20, 391—402. — 10. HELMER, O. M. & JUDSON, W. E. (1963), *Circulation* 27, 1050—1060. — 11. PICKENS, P. T., BUMPUS, F. M., LLOYD, A. M., SNEY, R. R. & PAGE, I. H. (1965), *Circ. Res.* 17, 438—448. — 12. KAULHAUSEN, H., FILLMANN, B. & BREUER, H. (1970), *diese Z.* 8, 254—258. — 13. KAULHAUSEN, H., SCHMIDT, H., LINDSTAEDT, H. & BREUER, H. (1972), *diese Z.* 10, 151—155. — 14. LARAGH, J. H. (1971), *Circulation* 44, 971 bis 974.

Prof. Dr. H. Breuer  
Inst. f. Klin. Chemie u. Klin. Biochemie  
53 Bonn-Venusberg